

USO PREVISTO

El sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte®** Epstein Barr Virus (EBV) IgG Plus de ZEUS tiene como objetivo la detección cualitativa de anticuerpos de clase IgG en tres antígenos VEB separados (VEB-ACV gp-125, VEB-AT total, y ANEB-1 recombinante) en suero humano utilizando el sistema AtheNA Multi-Lyte®. El sistema de prueba tiene como fin ser utilizado como una ayuda en el diagnóstico de laboratorio de mononucleosis infecciosa asociada con EBV y para proporcionar información epidemiológica sobre la enfermedad provocada por el virus Epstein-Barr. Las características de la ejecución del ensayo aún no se han establecido para pacientes inmunocomprometidos o inmunosuprimidos, sangre de cordón umbilical, muestras neonatales o niños muy pequeños. Las características de ejecución del ensayo aún no se han establecido para el diagnóstico de carcinoma nasofaríngeo, linfoma de Burkitt y otros linfomas relacionados con EBV. Esta prueba está concebida exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.

IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

El virus Epstein-Barr (VEB) es un virus humano ubicuo que produce la mononucleosis infecciosa (MI), una enfermedad linfoproliferativa autolimitada (1). Al llegar a la edad adulta, prácticamente todas las personas han sido infectadas y han desarrollado inmunidad contra el virus. En los países en vías de desarrollo, la seroconversión al virus tiene lugar en la primera infancia y suele ser asintomática (2). En los países más ricos, las infecciones primarias con VEB a menudo se demoran hasta la adolescencia o más tarde, y se manifiestan como MI en aproximadamente el 50% de este grupo de edad.(3 - 5)

Tras la seroconversión, ya sea sintomática o no, el VEB establece una infección latente crónica en los linfocitos B, la cual dura probablemente toda la vida (6). El VEB se duplica en las células epiteliales orofaríngeas y se encuentra presente en la saliva de la mayoría de los pacientes con MI (7). Además, entre el 10% y el 20% de las personas sanas que son positivas para el anticuerpo del VEB eliminan el virus en sus secreciones orales (6, 7, 8). La reactivación del estado de portador viral latente, tal como se evidencia en las mayores tasas de eliminación de virus, se potencia mediante la inmunosupresión, el embarazo, la malnutrición o la enfermedad (8, 9). Las infecciones EBV crónicas, ya sea latentes o activas, raramente están asociadas con enfermedades.

La prueba de Paul-Bunell-Davidson para anticuerpo heterófilo es altamente específica para MI (10). Sin embargo, entre el 10 y el 15% de adultos, y porcentajes más altos de niños y bebés, con infecciones primarias por VEB no desarrollan anticuerpos heterófilos (11). Se necesitan pruebas serológicas específicas de VEB para diferenciar infecciones primarias por VEB que son negativas para heterófilos de la enfermedad similar a la mononucleosis causada por otros agentes como citomegalovirus, adenovirus y *Toxoplasma gondii* (4).

Los títulos de anticuerpos para antígenos específicos del VEB se correlacionan con etapas diferentes de la MI (4, 10 - 12). Ambos anticuerpos (IgM e IgG) contra el antígeno de la cápside viral (ACV) muestran un pico entre las tres y cuatro semanas después de la infección primaria por el VEB. El IgM anti-ACV disminuye rápidamente y generalmente deja de detectarse transcurridas 12 semanas. Los títulos de IgG anti-ACV disminuyen lentamente después de alcanzar un pico y duran por tiempo indefinido. Los anticuerpos del antígeno nuclear EBV (EBNA) se desarrollan de 1 mes a 6 meses después de la infección, y al igual que los anti VCA, persisten de manera indefinida (11, 12). Los anticuerpos contra el ANEB indican que la infección no fue reciente (11).

Los antígenos tempranos (AT) del VEB constan de dos componentes; el difuso (D) y el restringido (R) (en este ensayo AT/D y AT/R están distribuidos de manera uniforme). Los términos D y R reflejan los diferentes patrones de tinción inmunofluorescente exhibidos por los dos componentes (13, 14). Los anticuerpos contra los AT aparecen de forma transitoria y duran hasta tres meses durante la fase aguda de la MI en el 85% de los pacientes (15, 16). La respuesta de los anticuerpos al AT en los pacientes con MI generalmente es contra el componente D, mientras que la seroconversión silente al VEB en niños produce anticuerpos contra el componente R (5, 11).

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** EBV Plus de ZEUS está diseñado para detectar los anticuerpos de clase IgG en suero humano ante una variedad de antígenos EBV. El procedimiento de la prueba comprende dos pasos de incubación:

1. Los sueros de prueba (diluidos correctamente) se incuban en una mezcla multiplexada de la suspensión de microesferas. La suspensión de microesferas contiene una mezcla de conjuntos distinguibles de microesferas de poliestireno; tres de estos conjuntos están conjugados con tres antígenos VEB (VEB-ACV, ANEB-1 y VEB-AT). Si está presente en los sueros del paciente, determinados anticuerpos se unirán con el antígeno inmovilizado en uno o más conjuntos de microesferas. Las microesferas se enjuagan para extraer las proteínas séricas no reactivas.
2. El IgG antihumano de cabra conjugado con ficoeritrina se añade al recipiente y la placa se incuba. El conjugado reaccionará con el anticuerpo de tipo IgG inmovilizado en la fase sólida del paso 1. A continuación, la suspensión de microesferas se analiza utilizando el instrumento **AtheNA Multi-Lyte**. El conjunto o conjunto de microesferas se clasifican (identifican) y la cantidad de molécula informante (conjugado PE) se determina para cada conjunto de microesferas. Mediante el empleo de *Intra-Well Calibration Technology®* (tecnología de calibración intrapocillo), se utilizan conjuntos de micropartículas de calibración interna para convertir fluorescencia sin procesar en resultado (unidades).

COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRUEBAS

Materiales suministrados:

Cada sistema de pruebas contiene los siguientes componentes en cantidad suficiente para realizar el número de pruebas indicado en la etiqueta del envase. **NOTA: los siguientes componentes contienen como conservante azida de sodio a una concentración de <0,1% (p/v): Suspensión de microesferas, controles, conjugado y SAVE Diluent®.**

SOLN	BEAD	
		1. Suspensión de microesferas: contiene microesferas de poliestireno de 5,6 micras separadas y distinguibles que se conjugan con los siguientes antígenos: VEB-VCA gp125 purificado, AT recombinante y ANEB -1 recombinante. La suspensión de microesferas también contiene un conjunto de microesferas diseñadas para detectar anticuerpos no específicos en la muestra del paciente (si está presente) y cuatro conjuntos de microesferas separadas que se utilizan para la calibración del ensayo. Un frasco de color ámbar que contiene 5,5 ml. Listo para usar.
CONJ		2. Conjugado: Ficoeritrina conjugada con IgG antihumana de cabra (γ específico de cadena). Una botella de color ámbar que contiene 15 ml. Listo para usar.
CONTROL	+	3. Control positivo (suero humano): Un vial de 0,2 ml con tapón rojo.
CONTROL	-	4. Control negativo (suero humano): Un vial de 0,2 ml con tapón verde.
DIL	SPE	5. Diluyente SAVE Diluent®: Una botella de 50 ml con tapón verde solución salina tamponada con fosfato. Listo para usar. NOTA: El diluyente SAVE Diluent® cambiará de color cuando se combine con suero.
WASHBUF	10X	6. Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. Una botella de 50 ml con tapón transparente que contiene solución salina tamponada con fosfato concentrada 10X.

NOTAS:

1. Los siguientes componentes no dependen del número de lote del sistema de pruebas y se pueden usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas AtheNA Multi-Lyte de ZEUS: Tampón de lavado y SAVE Diluent®
2. El sistema de pruebas también contiene:
 - a. Una etiqueta de componentes que contiene información específica de lote dentro de la caja del sistema de pruebas.

- b. Un disco compacto de calibración que incluye los valores de calibración del kit específicos de los lotes, necesarios para en análisis de muestras y para el control de calidad del ensayo, así como el prospecto.
- c. Una placa de disolución de 96 pocillos.
- d. Una placa del filtro de disolución de 96 pocillos.

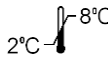
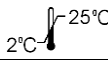
PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Se deben seguir las precauciones normales que se utilizan para manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque asistencia médica. Utilice ropa de protección adecuada, guantes y protección para la cara/ojos. No respire los vapores. Deshágase de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales.
3. La suspensión de microesferas **AtheNA Multi-Lyte** no contiene organismos viables. No obstante, el reactivo se debe considerar como un **PELIGRO BIOLÓGICO POTENCIAL** y se debe manipular consecuentemente.
4. Los controles son **material con potencial riesgo biológico**. Los materiales a partir de los cuales se obtuvieron estos productos resultaron negativos para el antígeno del VIH-1, el HBsAg y para anticuerpos contra el VHC y el VIH por métodos de prueba homologados. Sin embargo, dado que ningún método de prueba puede ofrecer una garantía total de que no hay agentes infecciosos, estos productos deberán manipularse con un Nivel de bioseguridad 2, tal como se recomienda para cualquier muestra de sangre o suero humano potencialmente infeccioso en el manual de Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos) de los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de la Salud: última edición; y en la Norma de la OSHA sobre Patógenos que se transmiten en la sangre (17, 18).
5. Para lograr resultados precisos, es esencial cumplir estrictamente los tiempos y temperaturas de incubación especificados. **Se debe dejar que todos los reactivos alcancen temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes de empezar el ensayo.** Devuelva los reactivos no utilizados a una temperatura refrigerada inmediatamente después de su uso.
6. Un lavado inadecuado podría ocasionar resultados de falsos positivos o falsos negativos. Debe reducirse al mínimo la cantidad de solución de lavado residual (p. ej., mediante secado o aspiración) antes de añadir el conjugado. No permita que los pocillos se sequen entre una incubación y la siguiente.
7. El diluyente SAVe®, la suspensión de microesferas, los controles y el conjugado contienen azida sódica en una concentración de 0,1% (w/v). Se ha informado que la azida sódica forma azidas de plomo o cobre en las cañerías del laboratorio, lo que puede ocasionar explosiones al golpear con un martillo. Para evitarlo, enjuague bien el lavabo con agua después de eliminar las soluciones que contengan azida de sodio.
8. La solución concentrada del tampón de lavado es IRRITANTE. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
9. La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
10. No utilice reactivos de otro origen o fabricante.
11. Nunca pipetee con la boca. Evite el contacto de los reactivos y las muestras de pacientes con la piel y las membranas mucosas.
12. Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Esto puede ocasionar resultados incorrectos.
13. La contaminación cruzada de reactivos y/o muestras podría ocasionar resultados erróneos.
14. Evite salpicar o generar aerosoles.
15. No exponga los reactivos a la luz intensa durante el almacenamiento o la incubación. La suspensión de microesferas y el conjugado son reactivos sensibles a la luz. Ambos se han embalado en envases que protegen de la luz. Las exposiciones normales que se experimentan durante el curso de la ejecución del ensayo no afectarán al rendimiento del ensayo. No exponga estos reactivos a fuentes potentes de luz visible de manera innecesaria.
16. Recoja la solución de lavado en un lavabo de eliminación. Trate la solución de desecho con desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio) Evite la exposición de los reactivos a los vapores de la lejía.
17. Precaución: neutralice cualquier desecho líquido con pH ácido antes de agregarlo a la solución de lejía.
18. No permita que el conjugado entre en contacto con recipientes o instrumentos que hayan podido contener previamente una solución que utilice azida de sodio como conservante. Los residuos de azida de sodio pueden destruir la actividad enzimática del conjugado.
19. No exponga ninguno de los reactivos a soluciones que contengan lejía o a ningún olor fuerte de soluciones que contengan lejía. Los restos de lejía (hipoclorito de sodio), incluso a nivel de trazas, pueden destruir la actividad biológica de muchos de los reactivos incluidos en este sistema de pruebas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Pipetas capaces de dispensar con exactitud entre 10 y 200 µl.
2. Pipeta multicanal capaz de dispensar con exactitud 10 - 200 µl.
3. Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
4. Pipetas serológicas.
5. Puntas de pipetas descartables.
6. Toallas de papel.
7. Cronómetro de laboratorio para controlar los pasos de incubación.
8. Recipiente para desechos y desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio)
9. Sistema **AtheNA Multi-Lyte** (Luminex® Instrument) con fluido envolvente (número de producto 40-50035).
10. Agua destilada o desionizada.
11. Vórtex.
12. Sonificador de baño pequeño.
13. Agitador de placas capaz de agitar a una velocidad de 800 RPM (opcional para el mezclado)
14. Aspirador de vacío y colector de vacío para lavar las microesferas.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

	Suspensión de microesferas: Extraiga solamente la cantidad necesaria de solución para analizar las muestras de la prueba y devuelva la parte no utilizada a su almacenamiento.
	Conjugado: NO CONGELAR.
	Sistema de pruebas, control positivo, control negativo y diluyente SAVe Diluent®
	Tampón de lavado (1X): hasta 7 días entre 20 y 25 °C o durante 30 días entre 2 y 8 °C.
	Tampón de lavado (10X): 2 - 25°C

RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

1. ZEUS Scientific recomienda que el usuario realice la recolección de muestras conforme al documento M29 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI): Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (Protección de los trabajadores de laboratorio frente a las enfermedades infecciosas).
2. Ningún método de prueba puede ofrecer una garantía completa de que las muestras de sangre humana no transmitirán infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre deben considerarse potencialmente infecciosos.
3. Con este ensayo solamente deben utilizarse sueros recién extraídos y debidamente refrigerados que se hayan obtenido mediante procedimientos homologados de venopunción aséptica. No los utilice si se han agregado anticoagulantes o conservantes. Evite utilizar sueros hemolizados, lipémicos o contaminados con bacterias.

- Almacene la muestra a temperatura ambiente durante un lapso no superior a las 8 horas. Si la prueba no se realiza dentro de las 8 horas, el suero puede almacenarse a entre 2 - 8° C, durante un lapso no superior a las 48 horas. Si tiene previsto retrasar la realización de la prueba, conserve los sueros de la prueba a -20 °C o a temperaturas inferiores. Evite múltiples ciclos de congelación/descongelación que puedan ocasionar la pérdida de actividad de los anticuerpos y dar lugar a resultados erróneos. Es responsabilidad de cada laboratorio utilizar todas las referencias disponibles o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad para su laboratorio (21).

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Retire los componentes individuales del kit del lugar de almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente (20 - 25°C).
- Determine el número total de Controles y muestras que se desean probar. Es necesario incluir el Control Negativo y el Control Positivo con cada tanda de pruebas. El Control Negativo se debe probar en el pocillo A1, y el Control Positivo en el pocillo B1. Cada Control y muestra necesita un micropocillo para su procesamiento.
 - Para optimizar los tiempos de lectura, la suspensión de microesferas debe estar bien mezclada antes de su empleo. El medio más efectivo de volver a suspender las microesferas es primero utilizar el vórtex con la suspensión de microesferas durante aproximadamente 30 segundos, seguido por la sonicación de la suspensión de microesferas durante 30 segundos en un pequeño sonicador de baño.
 - Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que el contenido del ensayo se mezcle detenidamente. Entre los medios adecuados de mezcla se incluye mezclar la placa en un agitador de placa durante aproximadamente 30 segundos a 800 RPM aproximadamente, o ajustar una pipeta en aproximadamente 1/2 del volumen en la placa y aspirar y expulsar repetidamente (bomba arriba y bomba abajo) el contenido del pocillo durante un mínimo de 5 ciclos.

EJEMPLO DE CONFIGURACIÓN DE LA PLACA		
	1	2
A	Control negativo	Etc.
B	Control positivo	
C	Paciente 1	
D	Paciente 2	
E	Paciente 3	
F	Paciente 4	
G	Paciente 5	
H	Paciente 6	

- Prepare una dilución 1:21 (por ejemplo: 10 µL de suero + 200 µL de diluyente SAVE Diluent®) del control negativo, del calibrador, del control positivo y de cada suero de paciente. **NOTA: El diluyente SAVE Diluent® sufrirá un cambio de color, lo cual confirma que la muestra se ha combinado con el diluyente.** Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que las disoluciones de muestra se mezclen detenidamente según el punto 2b.
- Después de determinar el número total de pocillos a procesar, utilice una pipeta multicanal o repetidora para dispensar 50 µL de suspensión de microesferas dentro de cada uno de los pocillos de la platina de filtración.
- Transfiera 10 µL de cada muestra diluida (1:21) y el control de la placa de disolución a la placa de filtración. Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que las disoluciones de muestra se mezclen detenidamente según el punto 2b.
- Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25°C) durante 30 ± 10 minutos.
- Después de la incubación, enjuague las microesferas mediante filtrado al vacío usando el tampón de lavado que se suministra diluido en la concentración 1x.
 - Coloque la placa de filtración sobre el colector de vacío y extraiga la solución, dejando las microesferas detrás.
 - Apague el vacío y añada 200 µL de Tampón de Lavado diluido 1x.
 - Aplique el vacío y extraiga la solución.
 - Repita los pasos 7b y 7c para un total de tres lavados.
- A continuación del lavado final, secar suavemente el fondo de la placa y permitir que la placa se seque al aire durante 3 a 5 minutos antes de continuar con el siguiente paso.
- Agregue 150 µL de conjugado a cada micropocillo a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras. Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que el conjugado y la suspensión de microesferas se mezclen detenidamente según el punto 2b. Como una opción, mientras mezcla el conjugado y las microesferas, puede transferir la mezcla a pocillos vacíos de una placa de reacción de poliestireno.
- Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25°C) durante 30 ± 10 minutos.
- Instale el instrumento **AtheNA Multi-Lyte** para analizar las reacciones. Para ello, seleccione la plantilla EBV IgG Plus. Consulte el manual del operador para obtener detalles sobre la operación del instrumento **AtheNA Multi-Lyte**. Los resultados se pueden leer en la placa del filtro o en una placa de reacción. **NOTA: Para obtener un análisis adecuado del espécimen, es importante que el instrumento se instale, calibre y mantenga de acuerdo con las instrucciones del fabricante.** Consulte el manual del instrumento para obtener información sobre la preparación del instrumento antes de la lectura de los resultados del ensayo.
- La placa deberá leerse en los 60 minutos posteriores a la adición de la incubación del conjugado. Es posible que decida agitar la placa durante unos 15 segundos antes de la lectura. Este paso opcional puede reducir la cantidad de tiempo necesario para leer la placa.

Paso	Procedimiento de prueba abreviado
1	Diluya las muestras al 1:21 en SAVE Diluent®. Mezcle bien.
2	Combine 50 µL de suspensión de microesferas con 10 µL de la muestra diluida en un pocillo vacío. Mezcle bien.
3	Incube a temperatura ambiente durante 30 ± 10 minutos.
4	Enjuague las microesferas 3 veces con 200 µL de Tampón de Lavado (1X).
5	Seque suavemente el fondo de la placa y secar con aire durante 3 a 5 minutos.
6	Agregue 150 µL de conjugado en cada pocillo. Mezcle bien.
7	Transfiéralo a una placa de reacción (opcional).
8	Incube a temperatura ambiente durante 30 ± 10 minutos
9	Agite la placa (opcional).
10	Lea los resultados dentro de un periodo de 60 minutos.

CONTROL DE CALIDAD

- Cada vez que se realiza el ensayo, es necesario incluir el Control Negativo (en el pocillo A1) y el Control Positivo (en el pocillo B1).
- La validez de la tirada se determina mediante la realización de los controles positivos y negativos. Estos criterios se analizan automáticamente mediante la *Intra-Well Calibration Technology*.
 - El Control negativo y el Control positivo deben ser todos negativos en la microesfera no específica o de antígeno de control.
 - El Control Negativo debe ser negativo para todos y cada uno de los analitos incluidos en la suspensión de microesferas.
 - El Control Positivo debe ser positivo para los tres analitos que se incluyen en la suspensión de microesferas. Estos rangos dependen de lote y están codificados dentro del CD de Calibración. Los rangos del PC se pueden ver haciendo clic sobre el botón "Gráfico de Control" del software **AtheNA Multi-Lyte** y después haciendo clic sobre "Límites superiores/inferiores de control".
 - Si no se cumple ninguno de los criterios anteriores, toda la tirada se considerará como no válida y se tendrá que repetir. **En este caso, no comunique los resultados del paciente.**

3. La validez de la muestra se basa en las características de las microesferas y sus interacciones con los sueros de los pacientes. Se supervisan diferentes parámetros automáticamente mediante la *Intra-Well Calibration Technology*. Si se determina que cualquiera de los criterios no cumple las especificaciones, los resultados del paciente se considerarán como no válidos y se deberán repetir. En caso de que esto se produzca, el informe de datos indicará la muestra en particular que se invalidó y el código de solución de problemas. Si una muestra resulta no válida repetidamente, se debe probar utilizando una metodología alternativa ya que es incompatible con el sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte® Plus**.
4. Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas. Los controles externos deben ser representativos del suero humano normal debido a que el sistema de calibración **AtheNA Multi-Lyte** se basa parcialmente en las características de la muestra de suero. Si la formulación de la muestra es artificial (no es suero humano), se pueden producir resultados erróneos.
5. Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de controles positivos y negativos para asegurar la funcionalidad de los reactivos y la ejecución adecuada del procedimiento del ensayo. Los requisitos de control de calidad se deben realizar en total cumplimiento con las normativas locales, autonómicas o estatales, o con los requisitos de acreditación y los procedimientos de control de Calidad normativos del laboratorio del usuario. Se recomienda que el usuario consulte CLSI EP12-A y 42 CFR 493.1256 para obtener información de ayuda sobre las prácticas de CC adecuadas (20).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. **Cálculos**
- a. Calibración del ensayo: El sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** EBV IgG Plus de Zeus utiliza la *Intra-Well Calibration Technology*. La *Intra-Well Calibration Technology* incluye una curva estándar con múltiples puntos dentro de la suspensión de microesferas. Con la *Intra-Well Calibration Technology*, cada pocillo del ensayo se calibra internamente sin que necesite la intervención del usuario. La curva estándar está diseñada para que se ajuste automáticamente basándose en las características únicas del paciente o suero de control. Los valores del calibrador se asignan de acuerdo con los estándares internos de ZEUS, son específicos del lote y están codificados en el CD de calibración del lote.
- b. Límite de referencia del analito: Cada analito del sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** EBV IgG Plus posee un límite de referencia asignado. ZEUS determina los límites de referencia para cada lote de sistema de pruebas, y están codificados en el CD de calibración del lote.
- c. Mediante la tecnología *Intra-Well Calibration Technology*, todos los cálculos se realizan automáticamente cuando se utiliza el sistema **AtheNA Multi-Lyte**. La tecnología *Intra-Well Calibration Technology* ejecuta un análisis de regresión de las normativas internas, y a continuación ajusta los valores de unidad calculados basándose en una normativa adicional y en las características de la muestra de suero.
2. **Interpretaciones**
- a. **Determinación de corte:** El corte para cada ensayo se estableció utilizando una población negativa para cada marcador. Los resultados de **AtheNA Multi-Lyte** se determinaron para esta población, y el corte se estableció en aproximadamente la media más tres veces la desviación estándar. Basándose en los resultados de esta prueba, el fabricante estableció las siguientes directrices para la interpretación de las muestras de los pacientes.
- b. **Interpretación del analito VEB:**

Valor unitario	Resultado	Interpretación
<100 AU/ml	Negativo	Un resultado AtheNA Multi-Lyte de < 100 AU/ml para cualquiera de los tres marcadores indica que no existe ningún anticuerpo IgG detectable para ese marcador particular, y que se debe informar que no es reactivo a anticuerpos IgG a ese marcador. Si los tres marcadores son negativos y se sospecha la exposición al virus Epstein-Barr, se debe obtener y probar una segunda muestra en un periodo posterior no superior a las dos semanas.
100 - 120 AU/ml	Equívoco	Muestras con resultado AtheNA Multi-Lyte en la escala equivoca (100 - 120 AU/ml) para cualquiera de los tres marcadores se deben probar de acuerdo con un procedimiento serológico alternativo, tal como el del anticuerpo fluorescente indirecto (IFA) de Zeus Scientific, Inc. u otros procedimientos de prueba ELISA. De manera alternativa, se debe recoger y probar una segunda muestra de espécimen acabada de obtener.
>120 AU/ml	Positivo	Un resultado AtheNA Multi-Lyte de > 120 AU/ml para cualquiera de los tres marcadores VEB indica que la muestra es positiva para el anticuerpo IgG de ese marcador. Un resultado de prueba positiva presume una infección en curso o pasada con EBV, y se debe informar como reactiva al anticuerpo IgG del marcador o marcadores. Otros ensayos serológicos de VEB, tales como el VEB-VCA IgM se deben realizar para confirmar el estado serológico, agudo activo, pasado o infección indeterminada para mononucleosis infecciosa asociada con VEB.

- c. Consultar la tabla de abajo que muestra la reactividad característica de diferentes marcadores EBV de acuerdo con el estado de la enfermedad (EBV cero negativo, infección aguda, infección pasada o indeterminada). En caso de que exista demasiada actividad en la microesfera NSC (control no específico), *Intra-Well Calibration Technology* anulará esa muestra en particular. Los especímenes que no sean válidos se deben volver a probar. Las muestras que resultan no válidas de manera repetida se deben volver a probar utilizando un procedimiento alternativo, como los procedimientos de prueba ZEUS IFA o ZEUS ELISA. Si el valor numérico del resultado final por encima del corte de cualquiera de los tres marcadores EBV no es indicativo de la cantidad de anticuerpos IgG anti BV presentes.

Clasificación EBV	Heterófilo	VCA IgM	VCA IgG	EBNA-1 IgG	EBV EA IgG ¹
Seronegativo	No reactivo	No reactivo	No reactivo	No reactivo	No reactivo
	No disponible	No reactivo	No reactivo	No reactivo	No reactivo
Infección aguda	Reactivo	Reactivo	Reactivo	No reactivo	Reactivo
	Reactivo	Reactivo	No reactivo	No reactivo	Reactivo
	No reactivo	Reactivo	Reactivo	No reactivo	Reactivo
	Reactivo	Reactivo	Reactivo	No reactivo	No disponible
	Reactivo	Reactivo	No reactivo	No reactivo	No disponible
Infección pasada	No reactivo	Reactivo	Reactivo	No reactivo	No disponible
	No reactivo	No reactivo	Reactivo	Reactivo	Reactivo
	No reactivo	No reactivo	Reactivo	Reactivo	No disponible
	No reactivo	No reactivo	Reactivo	Reactivo	No disponible
Indeterminada	Cualquier combinación que no aparezca en las tres categorías de arriba.				

¹ El antígeno AT que se utiliza para **AtheNA Multi-Lyte** contiene aproximadamente partes iguales de AT/D y AT/R. Anti-AT/D muestra una elevación transitoria durante la infección aguda, indetectable después de 3 a 6 meses. Anti-AT/R aparece después de AT/D y puede estar presente en mayor magnitud o igual en 2 años.

LIMITACIONES DEL ENSAYO

1. El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** EBV IgG Plus de ZEUS es una herramienta para el diagnóstico, pero no es en sí una prueba diagnóstica. Los resultados de la prueba se deben interpretar junto con la evaluación clínica y los resultados de otros procedimientos diagnósticos.
2. Las muestras hemolíticas, ictericas o lipémicas pueden interferir con el resultado de este ensayo. Además, los especímenes con concentraciones de IgC anormales pueden interferir con el resultado de este ensayo. Debe evitarse el uso de estos tipos de muestras.
3. No se han determinado las características de rendimiento de este dispositivo con la enfermedad asociada al VEB con excepción de la mononucleosis infecciosa.

4. Las pruebas no se deben utilizar como procedimiento de selección de individuos infectados entre la población general. El valor predictivo de un resultado positivo o negativo depende de la prevalencia del analito en una población de pacientes dada. La prueba sólo se debe realizar cuando la evidencia clínica sugiere el diagnóstico de mononucleosis infecciosa asociada al VEB.
5. Los resultados de la prueba para anti-ACV se deben interpretar en conjunción con la evaluación y resultados clínicos de las pruebas de anticuerpo para otros antígenos de VEB, ejemplo; ANEB, AT e IgG-ACV.
6. Los resultados de la prueba para pacientes inmunosuprimidos pueden ser difíciles de interpretar.
7. No se han establecido las características de funcionamiento de este dispositivo para otras matrices distintas del suero.
8. Las características de funcionamiento de este dispositivo no se han establecido con muestras que contiene anticuerpos heterófilos que se sabe que causan resultados falsos positivos en diversos inmunoensayos.

RESULTADOS ESPERADOS

El estudio clínico del producto incluía un total de 693 muestras obtenidas de manera prospectiva y 70 muestras recogidas retrospectivamente hasta un total de 763 muestras. Aparte de las muestras probadas en ZEUS, las muestras se probaron en otras tres instalaciones; un centro médico universitario en el este de los Estados Unidos y dos hospitales en el noroeste de los Estados Unidos. De las 693 muestras prospectivas, 412 (probadas en ZEUS y el centro médico universitario) incluyen los datos demográficos del paciente. El histograma (figura 1) describe la distribución de las edades de la totalidad de las 412 muestras, mientras que las otras tablas proporcionan la distribución sexual de las muestras. La tabla 2 muestra los resultados de las muestras de pacientes femeninos y masculinos para cada uno de los tres ensayos.

Tabla 1: Datos demográficos de los pacientes

	Número de muestras	VI	Mediana	Mínimo	Máximo
Muestras femeninas	243	34,8	32,0	1	84
Muestras masculinas	169	35,8	33,0	1	83

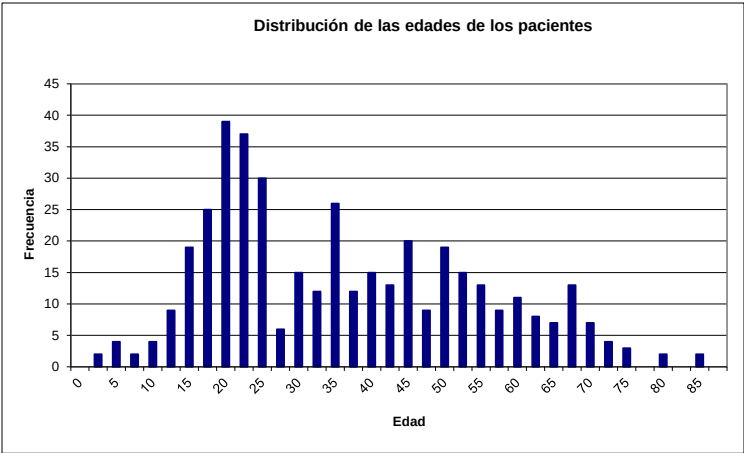


Figura 1: Distribución de edad

Tabla 2: Resultados estadísticos por ensayo

	Muestras femeninas			Muestras masculinas		
	ACV G	ANEB	AT	ACV G	ANEB	AT
Media (AU/ml)	352,6	626,5	150	353,5	611,6	145,3
Mediana (AU/ml)	365	747	116	324,5	729	115,5
Mínimo (AU/ml)	17	7	17	22	7	13
Máximo (AU/ml)	847	1050	632	830	1065	604

Resultado VEB-VCA IgG:

Para el grupo femenino, 81,1% (167/206) fueron positivos, 18,0% (37/206) fueron negativos, 1,0% (2/206) fueron equívocos y 0% (0/206) rindieron resultados no válidos. Para el grupo masculino, 78,7% (107/136) fueron positivos, 19,9% (27/136) fueron negativos, 1,5% (2/136) fueron equívocos y 0% (0/136) rindieron resultados no válidos. Con respecto a toda la población de 763 muestras probadas, 606/763 (79,4%) fueron positivos, 148/763 (19,4%) fueron negativos, 8/763 (1,0%) fueron equívocos y 1/763 (0,1%) no fueron válidos.

Resultados EBNA IgG:

Para el grupo femenino, 86,4% (178/206) fueron positivos, 12,1% (25/206) fueron negativos, 1,5% (3/206) fueron equívocos y 0% (0/206) rindieron resultados no válidos. Para el grupo masculino, 86,8% (118/136) fueron positivos, 13,2% (18/136) fueron negativos, 0% (0/136) fueron equívocos y 0% (0/136) rindieron resultados no válidos. Con respecto a toda la población de 763 muestras probadas, 547/763 (71,7%) fueron positivos, 211/763 (27,7%) fueron negativos, 4/763 (0,5%) fueron equívocos y 1/763 (0,1%) no fueron válidos.

Resultado VEB-AT IgG:

Para el grupo femenino, 49,5% (102/206) fueron positivos, 46,6% (96/206) fueron negativos, 3,9% (8/206) fueron equívocos y 0% (0/206) rindieron resultados no válidos. Para el grupo masculino, 49,3% (67/136) fueron positivos, 45,6% (62/136) fueron negativos, 5,1% (7/136) fueron equívocos y 0% (0/136) rindieron resultados no válidos. Con respecto a toda la población de 763 muestras probadas, 283/763 (37,1%) fueron positivos, 452/763 (59,2%) fueron negativos, 27/763 (3,5%) fueron equívocos y 1/763 (0,1%) no fueron válidos.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

1. Estudio comparativo

Se realizó un estudio comparativo con múltiples sedes para evaluar el rendimiento del sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** EBV IgG Plus de ZEUS, con respecto a la clasificación de enfermedades de las muestras tal como se determinó por otros reactivos serológicos VEB. Las muestras se probaron mediante ensayo ELISA de referencia para VEB-ACV IgG, ANEB IgG, VEB-ACV IgM y para anticuerpos heterófilos utilizando en ensayo de aglutinación de látex con el fin de su clasificación en estados de enfermedad. Los resultados de ELISA EBV EA IgG no se consideraron para los fines de clasificación de muestras en estados de enfermedad. Existía un total de 763 especímenes probados. De los 763 especímenes probados, 693 eran especímenes prospectivos y 70 eran especímenes retrospectivos. Se seleccionó el grupo retrospectivo ya que la información clínica sugería que eran representativos de casos agudos de mononucleosis infecciosa. Basándose en los resultados de las tres pruebas ELISA de referencia y la prueba de heterófilos, las pruebas se categorizaron en uno de 4 grupos tal como se indica en la Tabla 3.

Tabla 3: Población de muestras después de su clasificación por estado de enfermedad

Clasificación EBV	Muestras prospectivas	Especímenes retrospectivos	Heterófilo	VCA IgG	VCA IgM	EBNA-1 IgG
Infección aguda	28	50	+	+	+	-
			+	-	+	-
			-	+	+	-
No existe infección	95	1	-	-	-	-
			N/D	-	-	-
Infección pasada	480	3	-	+	-	+
			N/D	+	-	+
Indeterminada	90	16	+	+	+	+
			+	+	-	+
			-	-	+	+
			-	+	+	+
			-	+	-	-
			-	-	+	-
			-	-	-	+
			N/D	+	-	-
Total:	693	70	+ = Reactivo - = No reactivo N/D = No disponible			

NOTA: Cuando el resultado del ensayo de referencia era equivoco, se consideró como no reactivo (-).

Los datos comparativos de las muestras de la población prospectiva aguda, sin infección, con infección pasada e indeterminada (n = 693) se encuentran en las tablas 4 – 6.

Tabla 4: Ensayo de AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus de ZEUS en comparación con el ensayo ELISA EBV-VCA IgG comparativo

ELISA	Negativo				Equivoco				Positivo				Total N
AtheNA	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	
Agudo	9	1	0	0	1	0	0	0	16	0	0	1	28
No existe infección	2	92	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95
Infección pasada	0	0	0	0	0	0	0	0	441	35	4	0	480
Indeterminada	15	12	0	0	0	0	0	0	57	5	1	0	90
General	26	105	1	0	1	0	0	0	514	40	5	1	693

¹ Resultados equivocos siguen pruebas repetidas.

Tabla 5: Ensayo de AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus de ZEUS en comparación con el ensayo EBNA IgG ELISA comparativo

ELISA	Negativo				Equivoco				Positivo				Total N
AtheNA	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	
Agudo	4	23	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	28
No existe infección	4	90	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95
Infección pasada	0	0	0	0	0	0	0	0	472	6	2	0	480
Indeterminada	20	24	1	0	0	0	0	0	41	4	0	0	90
General	28	137	2	1	0	0	0	0	513	10	2	0	693

¹ Resultados equivocos siguen pruebas repetidas.

Tabla 6: Ensayo de AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus de ZEUS en comparación con el ensayo ELISA EBV-EA IgG comparativo

ELISA	Negativo				Equivoco				Positivo				Total N
AtheNA	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	
Agudo	3	19	0	1	0	1	0	0	1	3	0	0	28
No existe infección	2	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95
Infección pasada	137	213	24	0	8	0	0	0	95	3	0	0	480
Indeterminada	15	59	1	0	0	0	0	0	13	2	0	0	90
General	157	384	25	1	8	1	0	0	109	8	0	0	693

¹ Resultados equivocos siguen pruebas repetidas.

Los datos comparativos de las muestras de la población retrospectivos en los que se esperaba un caso agudo, sin infección, con infección pasada e indeterminados (n = 70) se encuentran en las tablas 7 – 9.

Tabla 7: Ensayo de AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus de ZEUS en comparación con el ensayo ELISA EBV-VCA IgG comparativo

ELISA	Negativo				Equivoco				Positivo				Total N
AtheNA	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	
Agudo	12	1	1	0	1	1	0	0	34	0	0	0	50
No existe infección	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Infección pasada	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3
Indeterminada	7	1	0	0	1	0	0	0	6	0	1	0	16
General	20	2	1	0	2	1	0	0	43	0	1	0	70

¹ Resultados equivocos siguen pruebas repetidas.

Tabla 8: Ensayo de AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus de ZEUS en comparación con el ensayo EBNA IgG ELISA comparativo

ELISA	Negativo				Equivoco				Positivo				Total N
AtheNA	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	
Agudo	2	48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
No existe infección	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Infección pasada	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3
Indeterminada	0	4	0	0	0	0	0	0	1	11	0	0	16
General	2	53	0	0	0	0	0	0	4	11	0	0	70

¹ Resultados equivocos siguen pruebas repetidas.

Tabla 9: Ensayo de AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus de ZEUS en comparación con el ensayo ELISA EBV-EA IgG comparativo

ELISA	Negativo				Equivoco				Positivo				Total N
AtheNA	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	Reactivo	No reactivo	Equivoco ¹	Inválido	
Agudo	1	25	0	0	1	3	1	0	4	14	1	0	50
No existe infección	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Infección pasada	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3
Indeterminada	0	10	0	0	0	0	0	0	1	5	0	0	16
General	2	37	0	0	1	3	1	0	6	19	1	0	70

¹ Resultados equivocos siguen pruebas repetidas.

Para fines de los cálculos del acuerdo porcentual, los resultados equivocos de **AtheNA Multi-Lyte® EBV IgG Plus de ZEUS** se asignaron a la interpretación clínica opuesta a la del resultado del ensayo comparativo. De igual manera, los resultados equivocos del ensayo comparativo se asignaron a la interpretación clínica opuesta a la del resultado de **AtheNA Multi-Lyte EBV IgG Plus de ZEUS**. El acuerdo porcentual entre los ensayos **AtheNA Multi-Lyte EBV IgG Plus de ZEUS** y los ensayos ELISA EBV IgG comparativos se resumen en las tablas 10 – 15.

Tabla 10: Ensayo de AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus de ZEUS en comparación con el ensayo ELISA EBV-VCA IgG de referencia - muestras prospectivas

Clasificación EBV	% de concordancia negativa (x/n) ^b	Intervalo de confianza con una exactitud del 95%	% de concordancia positiva (x/n) ^b	Intervalo de confianza con una exactitud del 95%
Agudo	9,1 (1/11)	0 – 26,1	94,1 (16/17)	82,9 – 100
No existe infección	97,9 (92/94)	95,0 - 100	N/D ^c	N/D
Infección pasada	N/D	N/D	91,9 (441/480)	89,4 - 94,3
Indeterminada	44,4 (12/27)	25,7 - 63,2	90,5 (57/63)	83,2 - 97,7
General	78,9 (105/133)	72,0 - 85,9	91,8 (514/560)	89,5 - 94,1

- a x = El número de resultados de **AtheNA Multi-Lyte EBV VCA IgG Plus** que se confirman positivos en acuerdo con los resultados positivos confirmados EBV VCA IgG de referencia; n = el número total de resultados EBV VCA IgG de referencia que se confirman como positivo.
- a x = El número de resultados de **AtheNA Multi-Lyte EBV VCA IgG Plus** que son no reactivos de acuerdo con la referencia EBV VCA IgG; n = el número total de resultados EBV VCA IgG de referencia que no son reactivos.
- c El acuerdo resultó en 0/0 muestras. En dichos casos, no se pudo calcular el acuerdo porcentual ni los intervalos de confianza del 95%.</cf>

Tabla 11: Ensayo de AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus de ZEUS en comparación con el ensayo ELISA EBNA IgG de referencia - muestras prospectivas

Clasificación EBV	% de concordancia negativa (x/n) ^b	Intervalo de confianza con una exactitud del 95%	% de concordancia positiva (x/n) ^b	Intervalo de confianza con una exactitud del 95%
Agudo	85,2 (23/27)	71,8 – 98,6	N/D ^c	N/D
No existe infección	95,7 (90/94)	91,7 - 99,8	N/D	N/D
Infección pasada	N/D	N/D	98,3 (472/480)	97,2 - 99,5
Indeterminada	53,3 (24/45)	38,8 - 67,9	91,1 (41/45)	82,8 - 99,4
General	77,0 (137/178)	70,8 - 83,2	97,7 (513/525)	96,4 - 99,0

- a x = número de resultados de **AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus de ZEUS** que se confirman positivos en acuerdo con los resultados positivos confirmados EBNA IgG de referencia; n = el número total de resultados EBNA IgG de referencia que se confirman como positivo.
- b x = número de resultados de **AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus de ZEUS** que son no reactivos de acuerdo con la referencia EBNA IgG; n = el número total de resultados EBNA IgG de referencia que no son reactivos.
- c El acuerdo resultó en 0/0 muestras. En dichos casos, no se pudo calcular el acuerdo porcentual ni los intervalos de confianza del 95%.</cf>

Tabla 12: Ensayo de AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus de ZEUS en comparación con el ensayo ELISA EBV-EA IgG de referencia - muestras prospectivas

Clasificación EBV	% de concordancia negativa (x/n) ^b	Intervalo de confianza con una exactitud del 95%	% de concordancia positiva (x/n) ^b	Intervalo de confianza con una exactitud del 95%
Agudo	79,2 (19/24)	62,9 – 95,4	25,0 (1/4)	0 – 67,4
No existe infección	97,9 (93/95)	95,0 – 100	N/D ^c	N/D
Infección pasada	55,8 (213/382)	50,8 - 60,7	96,9 (95/98)	93,5 – 100
Indeterminada	78,7 (59/75)	69,4 - 87,9	86,7 (13/15)	69,5 – 100
General	66,7 (384/576)	62,8 - 70,5	93,2 (109/117)	88,6 - 97,7

- a x = El número de resultados de **AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus de ZEUS** que se confirman positivos en acuerdo con los resultados positivos confirmados EBV-EA IgG de referencia; n = el número total de resultados EBV-EA IgG de referencia que se confirman como positivo.
- b x = El número de resultados de **AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus de ZEUS** que son no reactivos de acuerdo con la referencia EBV-EA IgG; n = el número total de resultados EBV-EA IgG de referencia que no son reactivos.
- c El acuerdo resultó en 0/0 muestras. En dichos casos, no se pudo calcular el acuerdo porcentual ni los intervalos de confianza del 95%.</cf>

Tabla 13: Ensayo de AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus de ZEUS en comparación con el ensayo ELISA EBV-VCA IgG de referencia - muestras retrospectivas (Esperado agudo)

Clasificación EBV	% de concordancia negativa (x/n) ^b	Intervalo de confianza con una exactitud del 95%	% de concordancia positiva (x/n) ^b	Intervalo de confianza con una exactitud del 95%
Agudo	6,3 (1/16)	0 – 18,1	100 (34/34)	100 – 100
No existe infección	0,0 (0/1)	0 – 0	N/D ^c	N/D
Infección pasada	N/D	N/D	100 (3/3)	100 – 100
Indeterminada	11,1 (1/9)	0 - 31,6	85,7 (6/7)	59,8 – 100
General	7,7 (2/26)	0 - 17,9	97,7 (43/44)	93,3 – 100

a = El número de resultados de **AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus de ZEUS** que se confirman positivos en acuerdo con los resultados positivos confirmados EBV-VCA IgG de referencia; n = el número total de resultados EBV-VCA IgG de referencia que se confirman como positivo.

b x = El número de resultados de **AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus** que son no reactivos de acuerdo con la referencia EBV-VCA IgG; n = el número total de resultados EBV-VCA IgG de referencia que no son reactivos.

c El acuerdo resultó en 0/0 muestras. En dichos casos, no se pudo calcular el acuerdo porcentual ni los intervalos de confianza del 95%.</cf>

Tabla 14: Ensayo de AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus de ZEUS en comparación con el ensayo ELISA EBNA IgG de referencia - muestras retrospectivas (esperado agudo)

Clasificación EBV	% de concordancia negativa (x/n) ^b	Intervalo de confianza con una exactitud del 95%	% de concordancia positiva (x/n) ^b	Intervalo de confianza con una exactitud del 95%
Agudo	96,0 (48/50)	90,6 – 100	N/D ^c	N/D
No existe infección	100 (1/1)	100 - 100	N/D	N/D
Infección pasada	N/D	N/D	100 (3/3)	100 – 100
Indeterminada	100 (4/4)	100 - 100	8,3 (1/12)	0 - 24,0
General	96,4 (53/55)	91,4 - 100	26,7 (4/15)	4,3 - 49,0

a x = número de resultados de **AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus de ZEUS** que se confirman positivos en acuerdo con los resultados positivos confirmados EBNA IgG de referencia; n = el número total de resultados EBNA IgG de referencia que se confirman como positivo.

b x = número de resultados de **AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus de ZEUS** que son no reactivos de acuerdo con la referencia EBNA IgG; n = el número total de resultados EBNA IgG de referencia que no son reactivos.

c El acuerdo resultó en 0/0 muestras. En dichos casos, no se pudo calcular el acuerdo porcentual ni los intervalos de confianza del 95%.</cf>

Tabla 15: Ensayo de AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus de ZEUS en comparación con el ensayo ELISA EBV-EA IgG de referencia - muestras retrospectivas (Esperado agudo)

Clasificación EBV	% de concordancia negativa (x/n) ^b	Intervalo de confianza con una exactitud del 95%	% de concordancia positiva (x/n) ^b	Intervalo de confianza con una exactitud del 95%
Agudo	80,6% (25/31)	66,7% - 94,6%	21,1% (4/19)	2,7% - 39,4%
No existe infección	100% (1/1)	100% - 100%	N/D ^c	N/D
Infección pasada	50,0% (1/2)	0% - 100%	100% (1/1)	100% - 100%
Indeterminada	100% (10/10)	100% - 100%	16,7% (1/6)	0% - 46,5%
General	84,1% (37/44)	73,3% - 94,9%	23,1% (6/26)	6,9% - 39,3%

a x = El número de resultados de **AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus de ZEUS** que se confirman positivos en acuerdo con los resultados positivos confirmados EBV-EA IgG de referencia; n = el número total de resultados EBV-EA IgG de referencia que se confirman como positivo.

b x = El número de resultados de **AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus de ZEUS** que son no reactivos de acuerdo con la referencia EBV-EA IgG; n = el número total de resultados EBV-EA IgG de referencia que no son reactivos.

c El acuerdo resultó en 0/0 muestras. En dichos casos, no se pudo calcular el acuerdo porcentual ni los intervalos de confianza del 95%.</cf>

2. Precisión

La precisión se evaluó en las tres instalaciones clínicas. Para evaluar la reproducibilidad intraensayo e interensayo, se probaron seis especímenes. En cada día de prueba, cada muestra se diluyó dos veces y después de cargó para cuatro replicados, resultando en un total de ocho pozuelos para cada una de las seis muestras. Este protocolo se siguió durante tres días. A continuación, estos resultados se utilizaron para calcular los valores U/mL medios, desviaciones estándar y CV porcentual. En cada instalación, las muestras se seleccionaron de tal manera que resultó que algunas de ellos eran claramente negativas, algunas eran claramente positivas y se seleccionaron algunas que estaban cerca del límite de referencia del ensayo. La Tabla 16 resume los datos de esta investigación.

Tabla 16: Pruebas de precisión:

			VEB-VCA						ANEB						VEB-AT					
			Panel 1	Panel 2	Panel 3	Panel 4	Panel 5	Panel 6	Panel 7	Panel 8	Panel 9	Panel 10	Panel 11	Panel 12	Panel 13	Panel 14	Panel 15	Panel 16	Panel 17	Panel 18
Laboratorio 1	En el día 1	VI	603	481	80	96	43	44	941	1041	110	43	32	23	785	433	100	141	78	61
		DE	20,12	16,88	13,15	11,09	3,62	4,62	55,26	39,14	8,85	5,42	2,38	2,93	48,68	23,55	6,65	6,25	5,62	7,78
		%CV	3,4	3,5	14,6	10,7	8,0	10,4	6,0	3,8	7,9	11,4	7,1	11,9	6,3	5,4	6,5	4,4	6,8	12,0
	En el día 2	DE	28,17	27,84	4,77	7,61	2,83	4,14	48,13	30,75	18,41	3,65	6,00	2,72	47,35	37,22	3,82	14,79	6,95	8,94
		%CV	4,7	5,9	5,9	8,3	6,8	9,3	5,2	2,9	16,1	9,6	9,3	11,6	6,0	8,9	3,9	10,1	9,1	14,6
	En el día 3	DE	50,64	44,12	5,96	7,44	3,29	5,68	53,18	76,73	7,38	5,15	2,38	2,45	86,79	38,29	11,97	8,68	11,20	12,08
		%CV	8,3	9,1	8,5	8,1	7,8	13,0	5,4	7,5	7,2	12,1	7,6	11,4	10,9	8,6	12,0	6,5	14,9	21,3
	Entre días	DE	35,01	30,73	11,76	10,47	3,55	4,66	57,99	52,53	12,94	6,00	2,62	2,88	62,19	34,38	795	11,40	8,46	9,94
		%CV	5,8	6,4	14,7	10,9	8,2	10,5	6,2	5,0	11,8	14,0	8,1	12,4	7,9	7,9	7,9	8,1	10,8	16,3
	Laboratorio 2	En el día 1	VI	559	470	77	88	32	34	905	1000	99	42	18	10	687	425	119	119	35
DE			22,23	13,77	5,78	4,89	2,56	3,96	30,25	32,93	6,58	5,13	1,39	1,46	20,68	15,72	4,72	4,24	4,75	3,78
%CV			4,1	3,1	8,4	6,3	8,1	12,5	3,4	3,4	7,6	15,3	7,2	17,9	3,0	4,0	4,3	3,9	14,1	18,5
En el día 2		DE	28,30	12,24	3,36	7,02	2,60	2,07	12,96	24,48	2,20	4,32	1,85	2,07	35,62	24,87	4,72	5,70	3,29	3,78
		%CV	4,7	5,9	5,9	8,3	6,8	9,3	1,4	2,5	2,0	10,0	12,0	21,8	5,2	6,2	4,3	4,7	11,5	18,0
En el día 3		DE	28,79	28,19	3,62	4,84	2,39	2,00	26,95	28,53	4,57	2,98	1,49	2,07	42,69	20,44	7,45	11,44	6,25	4,12
		%CV	5,0	5,6	4,3	5,0	6,9	5,1	2,9	2,7	4,4	6,0	7,5	16,4	6,2	4,3	5,5	9,1	14,6	18,0
Entre días		DE	29,97	33,14	7,55	9,62	3,13	4,49	31,76	59,45	10,35	7,84	2,51	2,64	32,78	40,73	13,37	10,22	7,60	3,88
		%CV	5,4	7,1	9,8	10,9	9,8	13,2	3,5	5,9	10,4	18,7	13,8	26,1	4,8	9,6	11,2	8,6	21,7	18,1
Laboratorio 3		En el día 1	VI	584	499	94	143	33	36	931	1046	111	32	17	10	677	457	107	130	31
	DE		27,63	43,55	5,59	7,70	2,67	3,23	20,77	45,47	9,05	5,55	5,37	3,14	26,82	20,59	6,32	5,70	8,67	6,97
	%CV		4,3	7,7	5,3	6,2	7,1	7,8	2,2	4,2	6,5	18,5	27,9	24,4	3,6	3,9	6,6	3,8	20,5	24,5
	En el día 2	DE	14,48	20,07	6,30	9,57	2,83	4,16	32,04	27,07	8,10	2,60	3,16	2,98	18,56	19,33	8,5	4,49	6,73	9,13
		%CV	2,6	4,3	7,3	6,4	9,3	12,3	3,4	2,6	8,4	7,7	20,5	31,3	2,8	4,6	7,8	3,8	25,2	40,8
	En el día 3	DE	22,82	17,20	7,69	10,34	2,73	2,97	27,81	43,14	5,42	4,17	2,66	2,49	39,96	16,10	11,08	7,48	5,96	5,76
		%CV	4,1	3,7	8,5	6,6	8,8	9,4	3,1	4,2	5,5	13,3	15,9	32,2	6,4	3,8	9,6	6,2	23,7	34,9
	Entre días	DE	48,55	54,35	10,32	15,98	4,18	5,32	34,56	45,33	21,08	4,39	4,08	3,51	55,59	54,87	12,01	16,52	10,52	8,68
		%CV	8,3	10,9	11,0	11,2	12,7	15,0	3,7	4,3	19,0	13,9	23,8	34,9	8,2	12,0	11,2	12,7	33,5	38,6
	Entre laboratorios	DE	42,18	41,99	12,37	27,38	6,21	6,55	45,14	55,95	16,11	8,00	7,60	6,88	70,85	45,63	13,70	15,73	23,07	20,10
%CV		7,2	8,7	14,8	25,1	17,2	17,3	4,9	5,4	15,1	20,6	33,8	47,7	9,9	10,4	12,6	12,1	47,9	57,5	

3. Reactividad cruzada

Para probar la reactividad cruzada potencial con otros anticuerpos IgG, se seleccionaron seis muestras que eran negativas para todos los marcadores EBV y también negativas para los anticuerpos heterofílicos y autoinmunitarios. Resultaron positivos para diferentes marcadores de enfermedades infecciosas, citomegalovirus (1), virus de herpes simple 1 (3), virus de herpes simple 2 (3), sarampion (5), paperas (6), rubeola (6), toxoplasmosis (1) y el virus varicela-zoster (5). Cuando estas muestras se probaron con el sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** EBV IgG Plus de ZEUS, resultaron negativas para los marcadores EBV probados. No se realizaron pruebas específicas de interferencia o reactividad cruzada con anticuerpos heterofílicos y autoinmunitarios.

4. Sustancias potencialmente interferentes

Se realizó un estudio para determinar los efectos potenciales de sustancias interferentes que se pueden encontrar en muestras de suero. Las sustancias potencialmente interferentes se añadieron en las muestras de suero en los niveles indicados en la tabla 17.

Tabla 17: Sustancias interferentes

Substancia	Adición baja	Adición baja
Bilirrubina	1,9 mg/dL	3,8 mg/dL
Albumina humana	5,5 g/dL	11 g/dL
IgC humano	1,8 g/dL	3,6 g/dL
Colesterol	200 mg/dL	400 mg/dL
Triglicéridos	150 mg/dL	300 mg/dL
Hemoglobina	18 g/dL	360 g/dL
Intralípidos	3,5 mg/dL	7 mg/dL

Es necesario indicar que los niveles de adición bajos y altos se sumaban al nivel de línea base de estos materiales que podrían haber estado presentes en los sueros originales. No se detectaron los niveles en los sueros originales. Para este estudio, para cada uno de los tres ensayos, se evaluaron tres sueros VEB IgG en presencia de cada una de las sustancias que se mencionan arriba. Dos de los sueros seleccionados eran claramente positivos y una de las muestras seleccionadas era débilmente positiva. Los resultados de las muestras de control y el suero con adición alta y baja se presentan en la Tabla 18.

Tabla 18: Resultados de muestra de sustancias interferentes

Ensayo	Número de muestra		Sustancia – Nivel de carga														
			Control – N/D	Bilirrubina - Bajo	Bilirrubina - Alto	Albumina - Bajo	Albumina - Alto	IgG - Bajo	IgG - Alto	Colesterol - Bajo	Colesterol - Alto	Triglicéridos - Bajo	Triglicéridos - Alto	Hemoglobina - Bajo	Hemoglobina - Alto	Intralípidos - Bajo	Intralípidos - Alto
AtheNA EBV IgG Plus de ZEUS	1	Resultado	711	653	727	631	681	626	705	617	627	581	590	650	641	634	601
		% recuperación de la señal positiva		91,8	102,3	88,7	95,8	88,0	99,2	86,8	88,2	81,7	83,0	91,4	90,2	89,2	84,5
	2	Resultado	581	622	563	578	644	570	597	521	484	534	484	468	544	480	461
		% recuperación de la señal positiva		107,1	96,9	99,5	110,8	98,1	102,8	89,7	83,3	91,9	83,3	806	93,6	82,6	79,3
	3	Resultado	282	287	242	179	174	546	532	220	173	265	194	199	182	199	213
		% recuperación de la señal positiva		101,8	85,8	63,5	61,7	193,6	188,7	78,0	61,3	94,0	68,8	70,6	64,5	70,6	75,5
AtheNA EBNA IgG Plus de ZEUS	1	Resultado	994	925	962	931	907	939	945	883	926	861	923	863	909	922	861
		% recuperación de la señal positiva		93,1	96,8	93,7	91,2	94,5	95,1	88,8	93,2	86,6	92,9	86,8	91,4	92,8	86,6
	2	Resultado	859	890	780	799	891	955	1003	734	689	809	682	728	756	715	686
		% recuperación de la señal positiva		103,6	90,8	93,0	103,7	111,2	116,8	85,4	80,2	94,2	79,4	84,7	88,0	83,2	79,9
	3	Resultado	353	380	310	241	226	1034	1007	287	253	342	301	258	242	250	272
		% recuperación de la señal positiva		107,6	87,8	68,3	64,0	292,9	285,3	81,3	71,7	96,9	85,3	73,1	68,6	70,8	77,1
AtheNA EBV-EA IgG Plus de ZEUS	1	Resultado	377	337	339	347	432	300	411	297	278	261	266	257	329	290	286
		% recuperación de la señal positiva		89,4	89,9	92,0	90,7	79,6	109,0	78,8	73,7	69,2	70,6	68,2	87,3	76,9	75,9
	2	Resultado	268	258	225	245	281	278	310	229	185	241	175	170	233	175	186
		% recuperación de la señal positiva		96,3	84,0	91,4	104,9	103,7	115,7	85,4	69,0	89,9	65,3	63,4	86,9	65,3	69,4
	3	Resultado	115	102	86	78	57	228	257	75	56	78	74	61	66	83	70
		% recuperación de la señal positiva		88,7	74,8	67,8	49,6	198,3	223,5	65,2	48,7	67,8	64,3	53,0	57,4	72,2	60,9

Todas las sustancias probadas mostraron algún nivel de interferencia con las muestras que utilizaban el sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte EBV IgG Plus** de ZEUS. La recuperación de la señal positiva para la Muestra positiva baja 3 iba desde el 48,7% al 292,9%, dependiendo del ensayo, la identidad del interferente y el nivel probado (consultar arriba).

Los resultados desacomodadamente altos para las muestras con adición de IgG humano se deben probablemente al hecho que el IgG humano adicionado era VEB positivo. Las muestras que son hemolíticas, ictericas, lipémicas o que contienen niveles elevados de IgG o colesterol no se deben probar con el sistema de prueba de AtheNA Multi-Lyte EBV IgG Plus. Aunque la cantidad limitada de datos presentada en el estudio podría o no podría demostrarlo, las muestras con niveles elevados de estas sustancias interferentes pueden generar resultados positivos falsos o negativos falsos.

REFERENCIAS

- Rapp CE, and Heweston JF: Infectious mononucleosis and the Epstein-Barr virus. Am. J. Dis. Child. 132:78, 1978.
- Biggar RJ, Henle W, Fleisher G, Bocker J, Lennette ET, and Henle G: Primary Epstein-Barr virus infections in African infants. I: Decline of maternal antibodies and time of infection. Int. J. Cancer. 22:239, 1978.
- Fry J: Infectious mononucleosis: Some new observations from a 15 year study. J. Fam. Prac. 10:1087, 1980.
- Lennette ET: Epstein-Barr virus. In: Manual of Clinical Microbiology, 4th edition. Lennette ET, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, eds. Washington DC, American Society for Microbiology, p. 326, 1987.
- Fleisher G, Henle W, Henle G, Lennette ET, and Biggar RJ: Primary infection with Epstein-Barr virus in infants in the United States: Clinical and Serological Observations. J. Infect. Dis. 139:553, 1979.
- Merlin TL: Chronic mononucleosis: Pitfalls in the laboratory diagnosis. Hum. Path. 17:2, 1986.
- Sixbey JW, Nedrud JG, Raab-Traub N, Hanes RA, Pagano JS: Epstein-Barr virus replication in oropharyngeal epithelial cells. New Eng. J. Med. 310:1225, 1984.
- Chang RS, Lewis JP, Reynolds RD, Sullivan MJ, Neuman J: Oropharyngeal excretion of Epstein-Barr virus by patients with lymphoproliferative disorders and by recipients of renal homografts. Ann. Intern. Med. 88:34, 1978.
- Jones JF, Ray G, Minnich LL, Hicks MJ, Kibler R, Lucas DO: Evidence of active Epstein-Barr virus infection in patients with persistent, unexplained illness. Elevated anti-early antigen antibodies. Ann. Intern. Med. 102:1, 1985.
- Evans AS, Neiderman JC, Cenabre LC, West B, and Richards VA: A prospective evaluation of heterophile and Epstein-Barr virus-specific IgM antibody tests in clinical and subclinical infectious mononucleosis: Specificity and sensitivity of the tests and persistence of antibody. J. Infect. Dis. 132:546, 1975.
- Henle W, Henle GE, and Horowitz CA: Epstein-Barr virus specific diagnostic tests in infectious mononucleosis. Hum. Path. 5:551, 1974.
- Lennette ET, and Henle W: Epstein-Barr virus infections: Clinical and serological features. Lab Management. p. 23, June, 1987.
- Reedman BM, and Klein G: Cellular localization of an Epstein-Barr virus (EBV) associated complement-fixing antigen in producer and non-producer lymphoblastoid cell lines. Int. J. Cancer 11:499, 1973.
- Henle G, Henle W, and Horowitz CA: Antibodies to Epstein-Barr virus-associated nuclear antigen in infectious mononucleosis. J. Infect. Dis. 130:231, 1974.
- Horowitz CA, Henle W, Henle G, Rudnick H, and Lutts E: Long-term serological follow-up of patients for Epstein-Barr virus after recovery from infectious mononucleosis. J. Infect. Dis. 151:1150, 1985.

16. Horowitz CA, Henle W, Henle G, and Schmitz H: Clinical evaluation of patients with infectious mononucleosis and development of antibodies to the R component of the Epstein-Barr virus-induced early antigen complex. Am. J. Med. 58:330, 1975.
17. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. U.S. Government Printing Office, Washington D.C., 4th Ed., 1999.
18. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration; Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed.Register 56:64175-64182, 1991.
19. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids and Tissues; Approved Guideline. NCCLS/CLSI Document M29, Vol.17(12), 1997.
20. CLSI. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline. CLSI document EP-12-A (ISBN 1-56238-468-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2002.
21. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4th Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.



ZEUS Scientific

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, EE. UU.
 Llamada gratuita (EE. UU.): 1-800-286-2111, opción 2
 Internacional: +1 908-526-3744
 Fax: +1 908-526-2058

Página Web: www.zeusscientific.com

AtheNA Multi-Lyte y **SAVE Diluent*** son marcas registradas de ZEUS Scientific

Para consultas al Servicio de atención al cliente en EE.UU., contacte con su distribuidor local.

Para consultas al Soporte técnico, contacte con ZEUS Scientific, llame de forma gratuita o escriba a support@zeusscientific.com.

Para consultas al Servicio de atención al cliente y al Soporte técnico desde fuera de EE.UU., contacte con su distribuidor local.

© 2021 ZEUS Scientific Todos los derechos reservados.



EMERGO EUROPE
 Westervoortsedijk 60
 6827 AT Arnhem
 The Netherlands